

Translation

## PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY  
(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference JA826102	FOR FURTHER ACTION See Form PCT/IPEA/416	
International application No. PCT/JP2003/011391	International filing date (day/month/year) 05 September 2003 (05.09.2003)	Priority date (day/month/year) 09 September 2002 (09.09.2002)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/09, C07H 21/02		
Applicant JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY AGENCY		

<p>1. This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>5</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p>3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising:</p> <p>a. <input checked="" type="checkbox"/> (<i>sent to the applicant and to the International Bureau</i>) a total of <u>4</u> sheets, as follows:</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis of this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions).</p> <p><input type="checkbox"/> sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box.</p> <p>b. <input checked="" type="checkbox"/> (<i>sent to the International Bureau only</i>) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) <u>1 diskette</u>, containing a sequence listing and/or tables related thereto, in computer readable form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see Section 802 of the Administrative Instructions).</p> <p>4. This report contains indications relating to the following items:</p> <table> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/> Box No. I</td> <td>Basis of the report</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> Box No. II</td> <td>Priority</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> Box No. III</td> <td>Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> Box No. IV</td> <td>Lack of unity of invention</td> </tr> <tr> <td><input checked="" type="checkbox"/> Box No. V</td> <td>Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> Box No. VI</td> <td>Certain documents cited</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> Box No. VII</td> <td>Certain defects in the international application</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> Box No. VIII</td> <td>Certain observations on the international application</td> </tr> </table>	<input checked="" type="checkbox"/> Box No. I	Basis of the report	<input type="checkbox"/> Box No. II	Priority	<input type="checkbox"/> Box No. III	Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability	<input type="checkbox"/> Box No. IV	Lack of unity of invention	<input checked="" type="checkbox"/> Box No. V	Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement	<input type="checkbox"/> Box No. VI	Certain documents cited	<input type="checkbox"/> Box No. VII	Certain defects in the international application	<input type="checkbox"/> Box No. VIII	Certain observations on the international application
<input checked="" type="checkbox"/> Box No. I	Basis of the report															
<input type="checkbox"/> Box No. II	Priority															
<input type="checkbox"/> Box No. III	Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability															
<input type="checkbox"/> Box No. IV	Lack of unity of invention															
<input checked="" type="checkbox"/> Box No. V	Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement															
<input type="checkbox"/> Box No. VI	Certain documents cited															
<input type="checkbox"/> Box No. VII	Certain defects in the international application															
<input type="checkbox"/> Box No. VIII	Certain observations on the international application															

Date of submission of the demand 04 March 2004 (04.03.2004)	Date of completion of this report 10 August 2004 (10.08.2004)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

## INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.

PCT/JP2003/011391

## Box No. I Basis of the report

1. With regard to the language, this report is based on the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

This report is based on translations from the original language into the following language \_\_\_\_\_, which is language of a translation furnished for the purpose of:

international search (under Rules 12.3 and 23.1(b))  
 publication of the international application (under Rule 12.4)  
 international preliminary examination (under Rules 55.2 and/or 55.3)

2. With regard to the elements of the international application, this report is based on (replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report):

The international application as originally filed/furnished  
 the description:

pages \_\_\_\_\_ 1-24 \_\_\_\_\_, as originally filed/furnished  
 pages\* \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_  
 pages\* \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_

the claims:

pages \_\_\_\_\_ 3-11, 14, 15, 17, 20, 22-25 \_\_\_\_\_, as originally filed/furnished  
 pages\* \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement) under Article 19  
 pages\* \_\_\_\_\_ 2, 12, 13, 18, 19, 21 \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_ 08 June 2004 (08.06.2004)  
 pages\* \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_

the drawings:

pages \_\_\_\_\_ 1-7 \_\_\_\_\_, as originally filed/furnished  
 pages\* \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_  
 pages\* \_\_\_\_\_ received by this Authority on \_\_\_\_\_

a sequence listing and/or any related table(s) – see Supplemental Box Relating to Sequence Listing.

3.  The amendments have resulted in the cancellation of:

the description, pages \_\_\_\_\_  
 the claims, Nos. \_\_\_\_\_ 1, 16 \_\_\_\_\_  
 the drawings, sheets/figs \_\_\_\_\_  
 the sequence listing (specify): \_\_\_\_\_  
 any table(s) related to sequence listing (specify): \_\_\_\_\_

4.  This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

the description, pages \_\_\_\_\_  
 the claims, Nos. \_\_\_\_\_  
 the drawings, sheets/figs \_\_\_\_\_  
 the sequence listing (specify): \_\_\_\_\_  
 any table(s) related to sequence listing (specify): \_\_\_\_\_

\* If item 4 applies, some or all of those sheets may be marked "superseded."

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY**

International application No.

PCT/JP2003/011391

**Supplemental Box Relating to Sequence Listing****Continuation of Box No. 1, item 2:**

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this report was established on the basis that of:

a. type of material

a sequence listing  
 table(s) related to the sequence listing

b. format of material

in written format  
 in computer readable form

c. time of filing/furnishing

contained in the international application as filed  
 filed together with the international application in computer readable form  
 furnished subsequently to this Authority for the purpose of search and/or examination  
 received by this Authority as an amendment\* on \_\_\_\_\_

2.  In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table(s) relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

\* If item 4 in Box No. 1 applies, the listing and /or table(s) related thereto, which form part of the basis of the report, may be marked "superseded".

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/JP 03/11391

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

## 1. Statement

Novelty (N)	Claims	2-15, 17-25	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	2-15, 17-25	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	2-15, 17-25	YES
	Claims		NO

## 2. Citations and explanations

Document 1: Keiko NINOMIYA, et al., "Antisense PNA Yudotai ni yoru tRNA amino-acyl-ka no Kento", CSJ: The Chemical Society of Japan Koen Yokoshu, 15 March 2001, Vol. 79, No. 2, pages 873 (1F310)

Document 2: M. Werner, et al., "Short Oligonucleotides as external guide sequences for site-specific cleavage of RNA molecules with human RNase P", RNA. July 1998, Vol. 4, No. 7, pages 847-855

Document 3: M. Sisido, et al., "Introduction of speciality functions by the position-specific incorporation of non-natural amino acids into proteins through four-base codon/anti-codon pairs", Appl. Microbiol. Biotechnol., October 2001, Vol. 57, No. 3, pages 274-281

Claims 2-11

The production and acquisition of specific aminoacyl tRNA through the application of anti-sense techniques was known prior to the priority date of the present application from the disclosures in documents 1-3. However, the feature wherein said reaction occurs in the

vicinity to the interface of the micelle is not disclosed in documents 1-3 and was not common technical knowledge at the priority date of this application. Therefore, a person skilled in the art could not have conceived of the invention set forth in these claims from documents 1-3 or the general state of the art at priority date; hence, these claims involve an inventive step.

Claims 12-15, 17-25

The feature of enhancing water-solubility by introducing a cationic amino acid at one end of an anti-sense molecule and the feature of using a peptide nucleic acid as a reaction stopper are not disclosed in the above-listed documents and were not common technical knowledge at the priority date. Therefore, a person skilled in the art could not have conceived of the invention set forth in these claims from documents 1-3 or the general state of the art at priority date; hence, these claims involve an inventive step.

## 特許協力条約

PCT

特許性に関する国際予備報告（特許協力条約第二章）

(法第12条、法施行規則第56条)  
[PCT36条及びPCT規則70]

REC'D 02 SEP 2004

WIPO PCT

出願人又は代理人 の書類記号 JA826102	今後の手続きについては、様式PCT/IPEA/416を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP03/11391	国際出願日 (日.月.年) 05.09.2003	優先日 (日.月.年) 09.09.2002
国際特許分類 (IPC)	Int Cl' C12N15/09, C07H21/02	
出願人 (氏名又は名称) 独立行政法人 科学技術振興機構		

1. この報告書は、PCT35条に基づきこの国際予備審査機関で作成された国際予備審査報告である。  
法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 4 ページからなる。

3. この報告には次の附属物件も添付されている。

a  附属書類は全部で 4 ページである。

指定されて、この報告の基礎とされた及び／又はこの国際予備審査機関が認めた訂正を含む明細書、請求の範囲及び／又は図面の用紙 (PCT規則70.16及び実施細則第607号参照)

第I欄4. 及び補充欄に示したように、出願時における国際出願の開示の範囲を超えた補正を含むものとこの国際予備審査機関が認定した差替え用紙

b  電子媒体は全部で フレキシブルディスク 1枚 (電子媒体の種類、数を示す)。  
配列表に関する補充欄に示すように、コンピュータ読み取り可能な形式による配列表又は配列表に関するデータを含む。 (実施細則第802号参照)

4. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

第I欄 国際予備審査報告の基礎  
 第II欄 優先権  
 第III欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成  
 第IV欄 発明の單一性の欠如  
 第V欄 PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明  
 第VI欄 ある種の引用文献  
 第VII欄 国際出願の不備  
 第VIII欄 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 04.03.2004	国際予備審査報告を作成した日 10.08.2004
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 小暮 道明 電話番号 03-3581-1101 内線 3448
	4B 9358

## 第I欄 報告の基礎

1. この国際予備審査報告は、下記に示す場合を除くほか、国際出願の言語を基礎とした。

この報告は、\_\_\_\_\_語による翻訳文を基礎とした。  
それは、次の目的で提出された翻訳文の言語である。

PCT規則12.3及び23.1(b)にいう国際調査  
 PCT規則12.4にいう国際公開  
 PCT規則55.2又は55.3にいう国際予備審査

2. この報告は下記の出願書類を基礎とした。（法第6条（PCT14条）の規定に基づく命令に応答するために提出された差替え用紙は、この報告において「出願時」とし、この報告に添付していない。）

出願時の国際出願書類

明細書

第 1-24 ページ、出願時に提出されたもの  
第 \_\_\_\_\_ ページ\*、 \_\_\_\_\_ 付けて国際予備審査機関が受理したもの  
第 \_\_\_\_\_ ページ\*、 \_\_\_\_\_ 付けて国際予備審査機関が受理したもの

請求の範囲

第 3-11, 14, 15, 17, 20, 22-25 項、出願時に提出されたもの  
第 \_\_\_\_\_ 項\*、PCT19条の規定に基づき補正されたもの  
第 2, 12, 13, 18, 19, 21 項\*、08.06.2004 付けて国際予備審査機関が受理したもの  
第 \_\_\_\_\_ 項\*、 \_\_\_\_\_ 付けて国際予備審査機関が受理したもの

図面

第 1-7 ページ/図、出願時に提出されたもの  
第 \_\_\_\_\_ ページ/図\*、 \_\_\_\_\_ 付けて国際予備審査機関が受理したもの  
第 \_\_\_\_\_ ページ/図\*、 \_\_\_\_\_ 付けて国際予備審査機関が受理したもの

配列表又は関連するテーブル

配列表に関する補充欄を参照すること。

3.  振正により、下記の書類が削除された。

<input type="checkbox"/> 明細書	第 _____	ページ _____
<input checked="" type="checkbox"/> 請求の範囲	第 1, 16	項 _____
<input type="checkbox"/> 図面	第 _____	ページ/図 _____
<input type="checkbox"/> 配列表（具体的に記載すること）	_____	
<input type="checkbox"/> 配列表に関連するテーブル（具体的に記載すること）	_____	

4.  この報告は、補充欄に示したように、この報告に添付されかつ以下に示した補正が出願時における開示の範囲を超えてされたものと認められるので、その補正がされなかつたものとして作成した。（PCT規則70.2(c)）

<input type="checkbox"/> 明細書	第 _____	ページ _____
<input type="checkbox"/> 請求の範囲	第 _____	項 _____
<input type="checkbox"/> 図面	第 _____	ページ/図 _____
<input type="checkbox"/> 配列表（具体的に記載すること）	_____	
<input type="checkbox"/> 配列表に関連するテーブル（具体的に記載すること）	_____	

\* 4. に該当する場合、その用紙に "superseded" と記入されることがある。

第V欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（PCT35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

## 1. 見解

新規性 (N) 請求の範囲 2-15, 17-25 有  
                  請求の範囲 有無

進歩性 (I S) 請求の範囲 2-15, 17-25 有  
                  請求の範囲 有無

産業上の利用可能性 (I A) 請求の範囲 2-15, 17-25 有  
                  請求の範囲 有無

## 2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

## 文献1:

二宮啓子 他, アンチセンス PNA誘導体による tRNAアミノアシル化の検討.  
日本化学会講演予稿集, 2001.03.15, vol. 79, no. 2, p. 873 (1F310)

## 文献2:

Werner M, et al., Short oligonucleotides as external guide  
sequences for site-specific cleavage of RNA molecules with  
human RNase P. RNA. 1998 Jul, vol. 4, no. 7, p. 847-855

## 文献3:

Sisido M, et al., Introduction of specialty functions by  
the position-specific incorporation of nonnatural amino  
acids into proteins through four-base codon/anticodon pairs.  
Appl Microbiol Biotechnol., 2001 Oct, vol. 57, no. 3, p. 274-281

## ・請求の範囲 2-11について

文献1-3の記載からみて、本願優先日前から、アンチセンス技術を応用して所  
望のアミノアシル tRNAを製造、取得することは公知のものであったといえる。  
しかし、その反応をミセル中の界面近傍で行うことは、文献1-3にも記載されて  
おらず、また、本願優先日前の技術常識でもない。したがって、上記請求の範囲に  
記載された発明は、文献1-3の記載及び本願優先日前の技術常識からでは当業者  
が容易に想到し得ることとはいえない、進歩性を有するものといえる。

## ・請求の範囲 12-15, 17-25について

アンチセンス分子の他端にカチオン性アミノ酸を導入して水溶性を高めること、  
並びに、反応停止剤としてペプチド核酸を用いることは、上記文献に記載されてお  
らず、また、本願優先日前の技術常識でもない。したがって、上記請求の範囲に記  
載された発明は、文献1-3の記載及び本願優先日前の技術常識からでは当業者  
が容易に想到し得ることとはいえない、進歩性を有するものといえる。

## 配列表に関する補充欄

## 第I欄2. の続き

1. この国際出願で開示されかつ請求の範囲に係る発明に必要なヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下に基づき国際予備報告を作成した。

a. タイプ  配列表  
 配列表に関するテーブル

b. フォーマット  書面  
 コンピュータ読み取り可能な形式

c. 提出時期  出願時の国際出願に含まれる  
 この国際出願と共にコンピュータ読み取り可能な形式により提出された  
 出願後に、調査又は予備審査のために、この国際機関に提出された  
 \_\_\_\_\_ 付けて、この国際予備審査機関が補正\*として受理した

2.  さらに、配列表又は配列表に関するテーブルを提出した場合に、出願後に提出した配列若しくは追加して提出した配列が出願時に提出した配列と同一である旨、又は、出願時の開示を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

3. 棚足意見：

\*第I欄4. に該当する場合、差替える配列表又は配列表に関するテーブルに "superseded" と記入されることがある。

## 請求の範囲

1. (削除)
2. (補正後) tRNAを選択的にアミノアシル化してアミノアシルtRNAを製造するに際し、tRNAとアミノ酸をミセル中の界面近傍に閉じこめ、両者を近接させて反応させることを特徴とする、tRNAのアミノアシル化方法。
3. アミノ酸のカルボキシル基を活性化して、これをミセル中に閉じこめ、このミセル中の界面近傍へtRNAの3'末端水酸基部分のみを挿入することにより、ミセル中界面近傍で、当該3'末端水酸基と活性化されたカルボキシル基とを近接させて反応させる請求の範囲第2項に記載のアミノアシル化方法。
4. アミノ酸のカルボキシル基をミセル内部で縮合剤を用いて活性化し、このミセル中の界面近傍へtRNAの3'末端水酸基部分のみを挿入することにより、ミセル中界面近傍で、当該3'末端水酸基と活性化されたカルボキシル基とを近接させて反応させる請求の範囲第2項に記載のアミノアシル化方法。
5. ペプチド核酸末端へ疎水性官能基を導入したものを、tRNAの3'末端近傍へ疎水基が来るよう、tRNAへ部位特異的相補結合させて、3'末端基部分を疎水性にすることにより、ミセル中の界面近傍へtRNAの3'末端水酸基部分のみを挿入する、請求の範囲第3項又は第4項に記載のアミノアシル化方法。
6. アミノ基を保護したアミノ酸を用いる請求の範囲第2項～第5項の何れかに記載のアミノアシル化方法。
7. 界面活性剤の存在下で反応を行う請求の範囲第2項～第6項の何れかに記載のアミノアシル化方法。
8. ポリエチレンイミン又は表面にカチオン性基を持ったデンドリマーの存在下で反応を行う請求の範囲第2項～第6項の何れかに記載のアミノアシル化方法。
9. O/W(水中油滴)型のミセル中で反応を行う請求の範囲第2項～第8項の何れかに記載のアミノアシル化方法。

10. オイルフリーの系で反応を行う請求の範囲第2項～第8項の何れかに記載のアミノアシル化方法。

11. 中性付近で高い触媒活性を示すエステル交換触媒を用いて反応を行う請求の範囲第2項～第10項の何れかに記載のアミノアシル化方法。

12. (補正後) tRNAを選択的にアミノアシル化してアミノアシルtRNAを製造するに際し、他端にカチオン性アミノ酸が導入された、tRNAと特異的相補結合するペプチド核酸をアンチセンス分子として介在させることにより、tRNAとアミノ酸を近接させて反応させることを特徴とする、tRNAのアミノアシル化方法。

13. (補正後) tRNAに導入すべきアミノ酸を予めエステル結合によりアンチセンス分子に結合させて、tRNAと反応させる請求の範囲第12項に記載のアミノアシル化方法。

14. アミノ酸を活性エステルを介してアンチセンス分子に結合させたものを用いて反応を行う、請求の範囲第13項に記載のアミノアシル化方法。

15. アンチセンス分子と活性エステルの間にリンカーを存在させたものを用いて反応を行う、請求の範囲第14項に記載のアミノアシル化方法。

16. (削除)

17. 下記一般式 [1]



[式中、-cAm-はカチオン性アミノ酸残基又は2～5のカチオン性アミノ酸から成るオリゴペプチド残基を表し、-PNA-はペプチド核酸残基を表し、-L-はリンカーを表し、-E-は活性エステル残基を表し、-AmはtRNAに導入すべきアミノ酸残基を表す。] で示される化合物を用いてtRNAと反応を行う請求の範囲第12項に記載のアミノアシル化方法。

18. (補正後) 中性付近で高い触媒活性を示すエステル交換触媒を用いて反応を行う請求の範囲第12項、第13項、第14項、第15項又は第17項に記載のアミノアシル化方法。

19. (補正後) 反応停止剤を用いる請求の範囲第12項、第13項、第14項、第15項、第17項又は第18項に記載のアミノアシル化方法。

日本国特許庁 08.6.2004

20. 反応停止剤が tRNA と特異的相補結合するペプチド核酸と相補対を形成するペプチド核酸である請求の範囲第19項に記載のアミノアシル化方法。

21. (補正後) tRNAと特異的相補結合するペプチド核酸以外に、更に、DNAをアンチセンス分子として用いて反応を行う請求の範囲第12項、第13項、第14項、第15項、第17項又は第18項に記載のアミノアシル化方法。

22. 反応系の温度を上昇させて反応を停止させる請求の範囲第21項に記載のアミノアシル化方法。

23. 反応系の温度を25℃に上昇させて反応を停止させる請求の範囲第22項に記載のアミノアシル化方法。

24. 一般式 [1]



[式中、-cAm-はカチオン性アミノ酸残基又は2~5のカチオン性アミノ酸から成るオリゴペプチド残基を表し、-PNA-はペプチド核酸残基を表し、-L-はリンカーを表し、-E-は活性エステル残基を表し、-AmはtRNAに導入すべきアミノ酸残基を表す。] で示される化合物。

25. 一般式 [1]において、-cAm-が-LysLys-であり、-PNA-が-CGTCGGT-であり、-Amが非天然アミノ酸である請求の範囲第24項に記載の化合物。